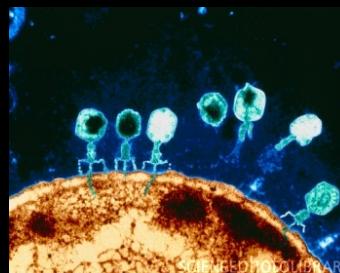
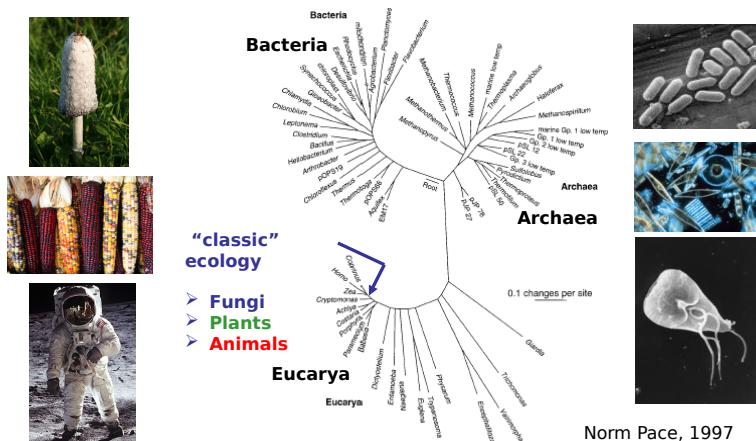


Conceptos de filo-informática para investigación en genómica, ecología y evolución microbiana

Pablo Vinuesa, Centro de Ciencias Genómicas – UNAM
vinuesa [at] ccg . unam . mx
<http://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/>

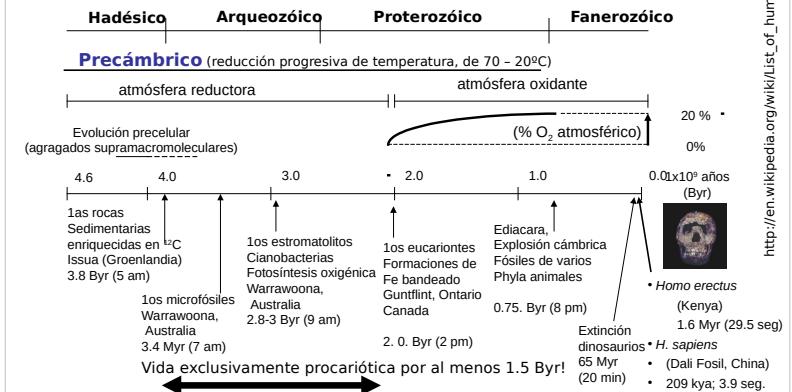


Biodiversity = microbial diversity



Evolución orgánica - La dimensión temporal

Historia de la tierra y de la vida



Parte I: Introducción a la Inferencia Filogenética

Conceptos básicos:

- * filogenia, evolución molecular y homología

Libros de referencia recomendados

- Felsenstein, J., 2004. Inferring phylogenies. Sinauer Associates, INC., Sunderland, MA.

Futuyma, D.J. 2005. Evolution. Sinauer Associates, INC., Sunderland, MA.

Graur, D., Li, W.H., 2000. Fundamentals of Molecular Evolution. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.

Nei, M., Kumar, S., 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, Inc., NY.

Page, R.D.M., Holmes, E.C., 1998. Molecular Evolution - A Phylogenetic Approach. Blackwell Science Ltd, Oxford.

Swofford, D.L., Olsen, G.J., Waddel, P.J., Hillis, D.M., 1996. Phylogenetic inference. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K. (Eds.), Molecular Systematics. Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp. 407-514. (Una revisión excelente del campo antes de aparecer los métodos Bayesianos)

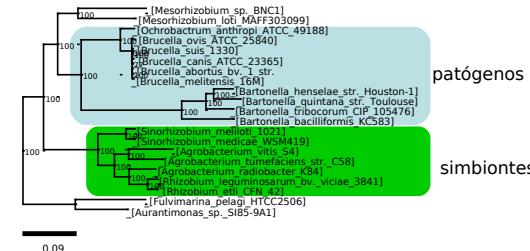
Introducción a la Inferencia Filogenética – las especies y genomas microbianos

Introducción a la filoinformática – pan-genómica y filogenómica. TIB2019, Junlio-Agosto 2019

La relación entre filogenética y evolución molecular:

- La **filogenética** tiene por objetivo el **trazar la relación ancestro descendiente de los organismos** (árbol filogenético) a diferentes niveles taxonómicos, incluyendo el árbol universal, haciendo una reconstrucción de esta relación en base a diversos **caracteres homólogos**, tanto **morfológicos** como **moleculares**.

Las hipótesis filogenéticas resultantes son la base para hacer **predicciones** (inferencias) sobre propiedades biológicas de los grupos revelados por la filogenia mediante el mapeo de caracteres sobre la topología (hipótesis evolutiva). También proveen el contexto comparativo para poder inferir patrones de **evolución molecular**.



¿Porqué estudiar filogenética y evolución molecular?

Corolario I:

"Nothing in biology makes sense except in the light of evolution"

- Theodosius Dobzhanski, 1973
(*The American Biology Teacher* 35:125)

Corolario II:

"Nothing in evolutionary biology makes sense except in the light of a phylogeny"

- Jeff Palmer, Douglas Soltis, Mark Chase, 2004
(*American J. Botany* 91: 1437-1445)



Evolución de la filogenética como disciplina científica

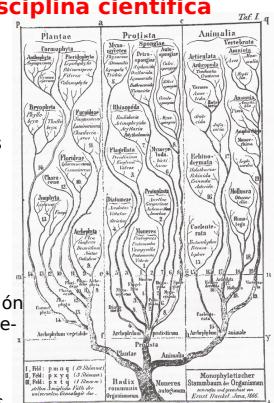


Los primeros intentos de reconstruir la historia filogenética estaban basados en pocos o ningún criterio objetivo.

Reflejaban las ideas o hipótesis plausibles generadas por expertos de grupos taxonómicos particulares.

La mayor parte de la 1a. mitad del SXX los sistemáticos estaban más preocupados por el problema de definir a las especies biológicas, describir mecanismos de especiación y la variación geográfica de las especies, que en entender su filogenia.

No fue hasta los 40's y 50's que los esfuerzos de individuos como Walter Zimmermann y Willi Henning comenzaron a definir métodos objetivos para reconstruir filogenias en base a caracteres compartidos entre organismos fósiles y contemporáneos.



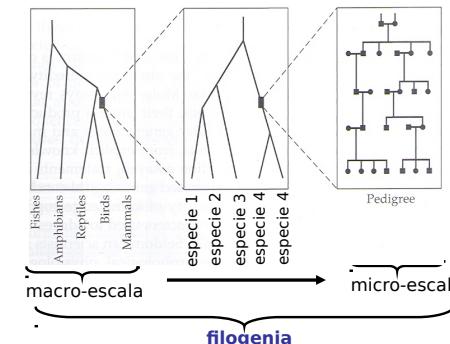
Filogenia y clasificación de la vida tal y como la propuso Ernst von Haeckel en 1866



El concepto de filogenia y homología: definiciones básicas

"The stream of heredity makes phylogeny; in a sense, it is phylogeny. Complete genetic analysis would provide the most priceless data for the mapping of this stream". G.G. Simpson (1945)

G.G. Simpson (1945)



Filogenia: historia evolutiva del flujo hereditario a distintos niveles evolutivos/temporales, desde la genealogía de genes en poblaciones (micro-escala; dominio de la genética de poblaciones) hasta el árbol universal (macro-escala)

El concepto de filogenia y homología: definiciones básicas

Homología: es la relación entre dos caracteres que han descendido generalmente con modificación, de un ancestro común. Estrictamente se refiere a ancestría común inferida.

Analogía: es la relación existente entre dos caracteres cuando éstos, aún siendo similares, han heredados convergentemente a partir de caracteres ancestrales no relacionados en términos genealógicos.

Cenancesto: del inglés (cenancestor), es el ancestro común más reciente de los taxa bajo consideración.

El concepto de homología: definiciones básicas

Dado que filogenia es “el flujo de la herencia”, **sólo los caracteres genéticos o heredables son informativos desde una perspectiva genealógica**

Caracteres y estados de carácter. Los evolucionistas distinguen entre caracteres, como por ejemplo los amino ácidos, y sus estados de carácter, como pueden ser gly o trp. La homología reside en los caracteres, no en sus estados!!!

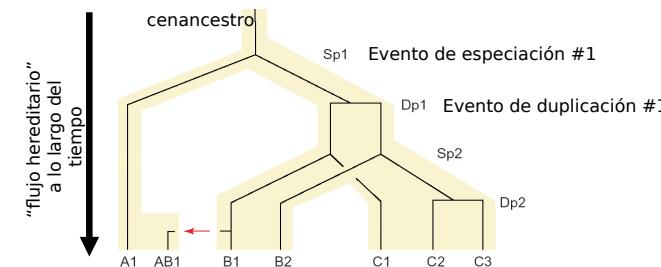
El reconocimiento de la condición de homología entre caracteres. **La homología no es una cualidad cuantitativa.** Sólo hay dos condiciones posibles: ser o no homólogo. No se es más o menos homólogo. Es como el embarazo. Se está o no se está en dicho estado y se es o no homólogo.

Por tanto, para cuantificar el parecido entre un par de secuencias homólogas se dice que presentan globalmente un 70% y 95% de **identidad y similitud**, respectivamente. (no existe algo como 95% de homología).

El concepto de homología es simplemente una abstracción sobre la relación entre caracteres, sobre su ascendencia común, relación que es indispensable determinar para poder hacer reconstrucciones filogenéticas que reflejen la historia del “flujo de la herencia”.

El concepto de homología: definiciones básicas

Subtipos de homología: ortología, paralogía y xenología



ortología: relación entre secuencias en la que la divergencia acontece tras un evento de especiación. El ancestro común es el cenancestro. La filogenia recuperada de estas secuencias refleja la filogenia de las especies.

paralogía: condición evolutiva en la que la divergencia observada acontece tras un evento de duplicación génica. La mezcla de ortólogos y parálogos en un mismo análisis filogenético recupera la filogenia correcta de los genes pero no necesariamente la de los organismos o taxa.

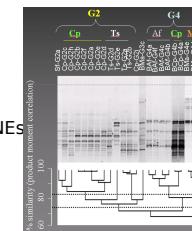
xenología: relación entre secuencias dada por un evento de transferencia horizontal entre linajes. Distorsiona fuertemente la filogenia de las especies.

Marcadores moleculares usados en filogenética y evolución molecular

Polimorfismos de DNA y proteínas

I) Marcadores dominantes (\neq secuencias)

- RFLPs
- Fingerprints genómicos (AFLPs, RAPDs, Rep-PCR, SINEs, SSRPs, NSNPs ...)
- Análisis multilocus de isoenzimas
- etc ...



Los datos moleculares revelan información genética. Sólo datos con una base genética son de interés en filogenética y evolución. De ahí que los marcadores moleculares son generalmente los favorecidos para hacer inferencias filogenéticas y evolutivas a distintos niveles taxonómicos.

Los caracteres fenotípicos muchas veces tienen una base genética menos clara y están gobernados por las interacciones de muchos genes con el ambiente. Muchos fenotipos presentan gran plasticidad, es decir, que un mismo genotipo puede presentar una gradación de fenotipos. Esta variación fenotípica puede confundir las verdaderas relaciones filogenéticas y determinación de parentescos.

El uso de protocolos de PCR permite acceder a todo el mundo biológico para escrutinios genéticos

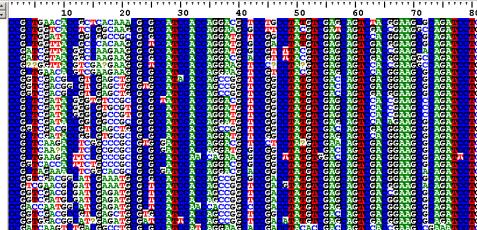
Los métodos moleculares permiten una fácil y robusta distinción entre homología y analogía y permiten hacer comparaciones de divergencia evolutiva usando métricos universales

Introducción a la Inferencia Filogenética – las especies y genomas microbianos

Introducción a la filoinformática – pan-genómica y filogenómica. TIB2019, Junlio-Agosto 2019

Marcadores moleculares usados en filogenética y evolución molecular

II) Secuencias moleculares DNA/proteína



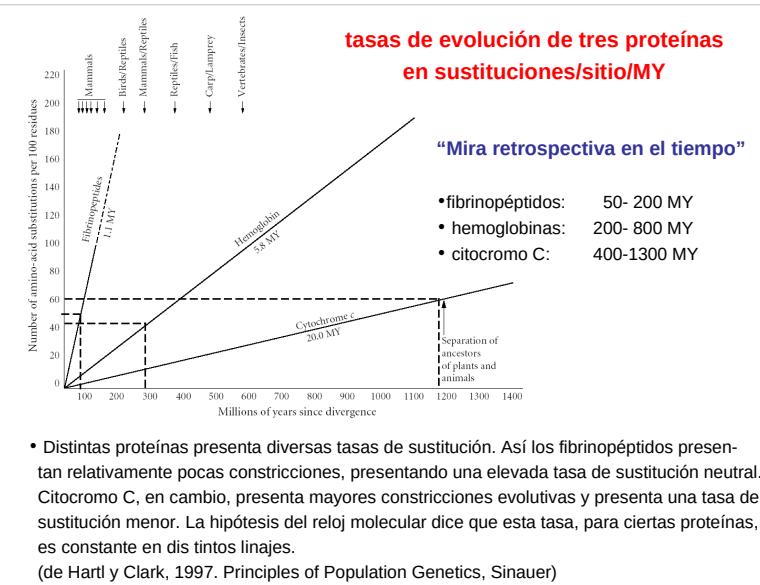
- La premisa fundamental en evol. molec. es que en dichas secuencias se encuentra escrita una buena parte de su historia evolutiva.
 - Secuencias de DNA representan el “nivel anatómico” más fino de un organismo
 - Buena parte de la biología moderna tiene por objetivo revelar la información contenida en secuencias moleculares
 - Para inferir la historia de relaciones de ancestría entre un conjunto de secuencias homólogas hemos de **determinar las correspondencias de homología entre los caracteres** haciendo un **alineamiento múltiple de las secuencias**

Selección de marcadores adecuados para hacer inferencias evolutivas a distintos niveles de profundidad filogenética

Restricciones funcionales vs. tasas de sustitución:

- Existe gran variabilidad en la tasa de sustitución entre genes y dominios génicos:
 - intrones vs. exones
 - regiones codificadoras vs. regiones intergénicas o pseudogenes
 - residuos catalíticos vs. no catalíticos, dominios estructurales vs. no estructurales
 - 3as. posiciones vs. 1as y 2as en codones de secuencias codificadoras,
 - asas vs. orquillas en rRNAs y tRNAs ...
 - Existen genes de evolución muy rápida o muy lenta:
 - fibrinopéptidos evolucionan una tasa x900 > a la de ubiquitina y x20 > citocromo C
 - genes de HIV evolucionan a $\times 10^6$ veces la tasa de un gen humano promedio!
 - **Tasas de evolución y la teoría neutral de evolución molecular:**

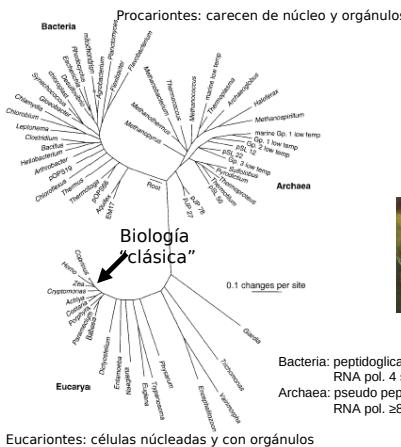
el reloj molecular, calibración y datación de eventos de especiación/extinción de linajes y pandemias ...



Aplicaciones y predicciones filogenéticas (I)

- Elucidación del árbol universal, sistemática bacteriana y la identificación/clasificación de microorganismos ambientales (cultivables y NO CULTIVABLES > 90-99%)

rrs: un marcador lento



Bacteria: peptidoglicano; lípidos de membrana son ésteres de glicerol;
RNA pol. 4 subunidades; formilmetionina como aa de inicio ...
Archaea: pseudo peptidoglicano; lípidos de membrana son ésteres de glicerol;
RNA pol. >8 subunidades; metionina como aa de inicio ...

Aplicaciones y predicciones filogenéticas (II):
Evidencia molecular de transmisión de HIV-1 en un caso criminal usando genes de evol. rápida

Un gastroenterólogo fue acusado del intento de asesinato en 2º grado de su novia mediante inyección de sangre contaminada con HIV-1.

Este estudio representa el primer caso en el que reconstrucciones filogenéticas de secuencias (paciente P, víctima V y controles LA de portadores en la población) fueron admitidas en una corte criminal en EUA.

Las filogenias de RT y de env mostraron que las secuencias de la V compartían ancestría directa en forma de paralogía con las de una P del gastroenterólogo.

Análisis de posiciones de codones de la RT de la V revelaron genotipos consistentes con mutaciones que confieren AZTR, similares a las presentadas en la P.

El establecimiento a priori de la P y V como posible par de transmisión del HIV-1 representó una clara hipótesis para ser evaluada en marcos de estadística filogenética.

100% of bootstrap replicates place victim sequences within patient sequences

a)

b)

Ref: Metzker et al. 2002. PNAS 99:14292-142976

Filogenias del gen RT basadas en secuencias de la V, la P y LA, obtenidas por dos labs. independientes.
a) Baylor College of Medicine, Houston, TX (BMC)
b) Dpt. Ecology and Evol. Biol., Univ. Michigan (MIC)